

XVII

ENCONTRO NACIONAL
TECNICEPA

VIANA DO CASTELO | 5, 6 e 7 Outubro 2000

TECNOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA A MELHORIA DAS CARACTERÍSTICAS DA FIBRA SECUNDÁRIA

Pala, H.; Mota, M.; Gama, F.M.

O presente trabalho tem por objectivo o estudo da utilização de enzimas e domínios das enzimas responsáveis pela ligação à celulose (Cellulose Binding Domains – CBD's) para melhoria das propriedades de fibra secundária. Uma amostra de fibra secundária proveniente da desintegração de cartão (Portucel Viana) foi tratada por via enzimática e por adição de CBD's. O tratamento enzimático permitiu o aumento da drenabilidade, embora as propriedades de resistência tenham diminuído. A adição de CBD's conduziu a resultados bastante satisfatórios, permitindo o aumento simultâneo da drenabilidade da pasta e da resistência do papel.

Palavras-chave: fibra secundária, enzimas, domínios de ligação

INTRODUÇÃO

A constante redução da quantidade de matéria prima disponível e o seu elevado custo, bem como os problemas ambientais associados aos processos de fabrico tradicionais e à alteração dos recursos florestais, conduzem a indústria papeleira à procura de formas de produção alternativas.

Actualmente, poder-se-ão sugerir três vias alternativas: (i) recurso a espécies de crescimento rápido; (ii) incorporação de fibras que não são provenientes da madeira (ex. resíduos da agricultura, palha); (iii) incorporação de fibra secundária. As duas últimas soluções têm sido alvo de maior atenção, uma vez que são de custo reduzido e a reutilização representa uma solução para o problema de eliminação destes resíduos.

O presente trabalho refere-se à incorporação da fibra secundária na produção. O estudo efectuado visa a melhoria das propriedades físicas destas fibras, no sentido de minimizar os problemas associados às metodologias de fabrico e aumentar a qualidade do produto final.

A fibra secundária

Durante o processo de fabrico, a fibra sofre alterações que limitam a sua incorporação nos ciclos de produção seguintes. A qualidade do papel “com reciclados” é afectada, essencialmente, pelo menor tamanho da fibra secundária e pela sua maior resistência à drenagem.

A diminuição da drenabilidade torna indispensável uma menor diluição da suspensão de pasta à entrada da máquina de papel, o que resulta numa pior formação da folha. Este factor afecta ainda a taxa e os custos de produção, uma vez que reduz a velocidade da máquina de papel e aumenta a quantidade de energia necessária ao processo de secagem. [3, 4, 7, 8, 13]

Processos para melhorar a qualidade da fibra secundária

As técnicas mais correntemente utilizadas para melhorar as propriedades da fibra secundária não permitem resultados totalmente satisfatórios, uma vez que não garantem o aumento simultâneo da resistência do papel e da capacidade de drenagem das pastas. A Tabela I apresenta alguns exemplos dos métodos actualmente aplicados. [3, 10]

Tabela I: Metodologias para melhoria das propriedades da fibra secundária (Exemplos)	
MÉTODO	RESULTADO
<i>Tratamento em condições alcalinas</i>	Este método permite melhorar a ligação entre as fibras e as propriedades de resistência. As condições alcalinas promovem o entumescimento e consequentemente aumentam a flexibilidade das fibras e a área superficial acessível para ligação. Infelizmente, a drenabilidade decresce.
<i>Refinação</i>	A estrutura da parede das fibras é modificada devido à acção abrasiva aplicada; a área da fibra disponível para ligação aumenta, garantindo o aumento da resistência do papel. Durante este processo são libertadas quantidades consideráveis de finos, o que afecta a drenabilidade.
<i>Aditivos</i>	A adição de certos polímeros permite o aumento da força e do número de ligações que se formam entre as fibras; em consequência, a resistência do papel aumenta.
	A adição de compostos responsáveis pela alteração da interacção fibra/água, minimizando a afinidade que existe entre elas, permite o aumento da drenabilidade.

É neste contexto que o recurso a tecnologias mais avançadas parece ser indispensável.

Tratamento enzimático de pastas de papel e o Recurso aos CBD'S

Os resultados dos estudos de tratamento enzimático aplicado a materiais celulósicos são descritos do mais variado modo. Em alguns casos, os processos enzimáticos são apontados como ideais, mas noutros casos a sua aplicação parece

não se justificar do ponto de vista técnico ou económico. De facto, o processo enzimático parece ser dependente da acção conjunta de um vasto conjunto de variáveis, tais como o tipo de enzima, a concentração da enzima, o tipo e consistência da pasta, a agitação durante a reacção, o meio de reacção (ex. pH, presença de iões metálicos), o período de reacção, a composição e a estrutura das fibras. Só mediante a total compreensão dos mecanismos enzimáticos e das relações enzima/substrato será possível minimizar ou eliminar os efeitos negativos associados à acção das enzimas. [2, 4, 5, 7, 8, 9, 15]

Jackson et al. justificou o aumento da drenabilidade por meios enzimáticos, através dos seguintes mecanismos: (i) floculação dos finos e das fibras pequenas, mais fácil na presença de enzimas; (ii) hidrólise moderada dos finos; (iii) remoção de pequenas fibrilas ou partículas da superfície das fibras, pela acção hidrolítica das enzimas. Segundo estes autores, a perda de resistência só ocorreria se se processasse um ataque enzimático muito intenso, capaz de causar a diminuição da resistência intrínseca da fibra, a remoção acentuada das fibrilas presentes na superfície das fibras ou a hidrólise excessiva dos finos. [9]

Este processo já tinha sido explicado com mais pormenor por Pommier et al. A acção das enzimas foi comparada a um efeito de “depilação” da superfície das fibras. [7]

Se a “depilação” se restringisse às camadas exteriores da fibra, as enzimas só removeriam pequenos componentes com elevada afinidade pela água, mas sem grande peso no potencial de ligação entre as fibras. A menor interacção entre as fibras e as moléculas de água permitiria o aumento da capacidade de drenagem, sem afectar as propriedades de resistência do papel.

Se a reacção enzimática fosse muito extensa, o efeito de “depilação” seria demasiado acentuado, afectando a estrutura das fibras e conduzindo à redução do seu comprimento e à excessiva libertação de finos. Neste caso, a melhoria da drenabilidade deixaria de se fazer sentir, e as propriedades do papel seriam drasticamente afectadas.

Ainda que aceitando esta teoria, pensa-se que a alteração das propriedades físicas resultante do tratamento das pastas com enzima poderá ser alvo de outras explicações. As propriedades superficiais poderão ser modificadas, não apenas pela hidrólise enzimática das camadas externas das fibras, mas também pela adsorção das enzimas na superfície destas. A diferente interacção existente entre a enzima adsorvida, a fibra e a água pode ser o factor responsável pela modificação da drenabilidade e das resistências. No nosso ponto de vista, e tal como no caso do efeito de floculação resultante da presença de enzimas, a aplicação desta teoria restringir-se-ia a situações em que a actividade enzimática fosse mínima. Sempre que a actividade das enzimas sobre as fibras é importante, as alterações observadas são melhor explicadas pela teoria do “efeito de depilação”.

É neste contexto que surge uma nova via de investigação, colocando-se a hipótese de garantir as alterações das propriedades superficiais das fibras não mediante a adsorção das moléculas intactas das enzimas, mas apenas dos seus domínios de ligação. Deste modo, poderão eliminar-se as modificações estruturais que

podem ser causadas pela hidrólise enzimática e mantém-se a alteração causada pela adsorção.

Enzimas

O tratamento enzimático das pastas é geralmente efectuado na presença de enzimas com elevada afinidade pelos componentes morfológicos das fibras, nomeadamente celulases e hemicelulases. A estrutura das fibras consiste numa matriz de feixes de microfibrilas de celulose, rodeados por lenhina e hemiceluloses.

A modificação da celulose é normalmente efectuada através da actividade de três tipos de enzimas. Estas enzimas actuam de modo sinérgico, sob influência das propriedades do substrato a degradar, da concentração enzimática e da sua proporção relativa. O mecanismo hidrolítico proposto é apresentado na Figura I [1].

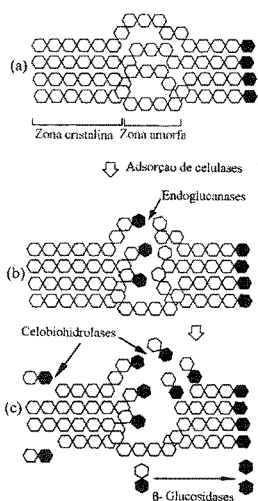


Figura I: Mecanismo de hidrólise da celulose

1) As endoglucanases, efectivas na hidrólise de celulose amorfa, atacam aleatoriamente o interior da cadeia celulósica e liberam terminais redutores para a acção das exoglucanases.

2) As exoglucanases / Celobiohidrolases, efectivas na hidrólise das regiões cristalinas da celulose, produzem celobiose a partir das extremidades redutoras ou não redutoras das cadeias criadas pelas endoglucanases.

3) b-Glucosidases, que hidrolisam a celobiose a glucose, reduzindo a acção inibitória que a presença deste produto exerce sobre a actividade das endo- e exo-glucanases.

A actuação destas enzimas é efectuada de modo sequencial pelo que a actividade hidrolítica total aumenta em consequência do efeito de sinergia. A utilização de preparados em que estas enzimas estão isoladas poderá permitir um controlo mais simples da actividade enzimática e a modificação selectiva da estrutura das fibras para melhoria das suas propriedades. [4, 6, 12, 14]

A estrutura das celulases é apresentada na Figura II e consiste em dois domínios globulares, ligados por uma região denominada por “ligante”. Os domínios globulares são denominados de acordo com as funções que exercem. O domínio catalítico é o responsável pela reacção de hidrólise, e o domínio

de ligação (CBD) é o responsável pela adsorção da enzima às moléculas de celulose. [1]

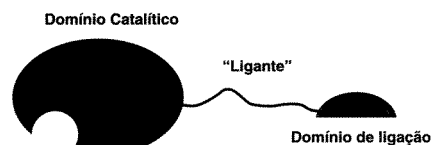


Figura II: Estrutura das celulases

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho pretendeu-se verificar a possibilidade de melhorar as propriedades de uma amostra de fibra secundária proveniente da desintegração de cartão velho, mediante a aplicação de dois processos distintos:

(A) Tratamento enzimático da pasta de papel com uma enzima comercial.

(B) Tratamento da pasta de papel com os domínios de ligação (CBD's) das enzimas presentes no preparado enzimático utilizado em (A).

Preparação enzimática

A preparação enzimática usada consiste numa mistura comercial composta por diferentes celulases e foi fornecida pela empresa Novo Nordisk. As suas características mais relevantes são apresentadas na Figura III. Os procedimentos experimentais utilizados na caracterização desta enzima são descritos a seguir.

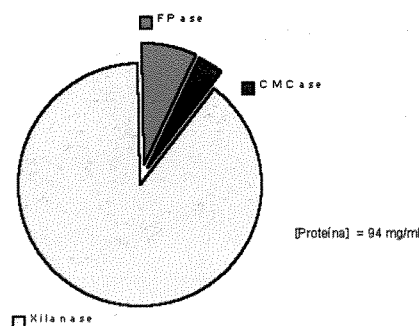


Figura III: Distribuição relativa da atividade enzimática presente em Celluclast 1.5

Medição da actividade Endoglucanase (Ensaio da Carboximetilcelulase)

Adicionaram-se 0,5 ml de solução de enzima a 0,5 ml de carboximetilcelulose diluída em tampão acetato (10 mM, pH 4,8), e deixou-se incubar a 50°C, durante 30 min. Os açúcares redutores foram quantificados pelo método de DNS, tendo-se utilizado a glucose como padrão.

Medição da actividade Exoglucanase (Ensaio do Papel de Filtro)

Adicionou-se 1 ml de enzima a 1 ml de solução tampão acetato contendo 50 mg de papel de filtro Whatman nº1. Decorrida 1 hora de incubação ($T = 50^{\circ}\text{C}$), os açúcares redutores foram medidos pelo método de DNS, tendo-se utilizado a glucose como padrão.

Medição da actividade Xilanasase (Ensaio do Xilano oat-spelts)

Preparou-se uma solução de xilano por suspensão de 20 g deste composto em 1 l de solução tampão acetato (10 mM, pH 4,8). Após aquecimento até ao ponto de ebulição, a solução foi arrefecida à temperatura ambiente, e centrifugada (para remoção dos materiais não dissolvidos). A actividade enzimática foi determinada por incubação de 0,5 ml de solução de enzima em 0,5 ml desta solução ($T = 50^{\circ}\text{C}$, $t = 1$ h). Os açúcares redutores foram quantificados pelo método de DNS, tendo-se utilizado a glucose como padrão.

Quantificação da proteína (Método de Bradford)

Solução de CBD's

A amostra de CBD's foi produzida segundo o protocolo descrito em [11].

Doseamentos

Os ensaios foram realizados mediante a aplicação de diferentes dosagens de enzima e de CBD's no tratamento da pasta de papel, de modo a que a influência da concentração da enzima e de CBD's nas propriedades do produto final fosse avaliada (Tabela II).

Tabela II: Dosagens aplicadas no tratamento da pasta de papel			
TRATAMENTO	mg de proteína / g pasta a.s.		
Celluclast 1.5L	0.7	1.6	3.2
CBD's	0.4	1.4	2.8

Amostra

A amostra de pasta utilizada foi fornecida pela empresa Portucel Viana e resulta da desintegração de cartão velho, constituído por 60% papel kraft, 20% flutting e 20% test liner.

Tratamento enzimático da pasta

15 g de pasta absolutamente seca (a. s.) foram desintegrados em tampão citrato 0.05M, pH 5.0, durante 10 minutos. Em seguida, a enzima foi adicionada ao meio de reacção, tendo reagido durante 30 minutos, em agitação lenta e continua. A solução enzimática foi diluída, de modo que a sua dispersão no meio fosse a melhor possível. No final do ensaio a enzima foi inactivada, fervendo a mistura durante 5 minutos. A pasta foi recuperada através de um processo de filtração (Figura IV).

Para que a acção das enzimas fosse correctamente estimada, realizaram-se ensaios de controlo, paralelamente aos ensaios enzimáticos. Estes decorreram em condições operatórias idênticas às descritas, embora a enzima activa fosse substituída por enzima desnaturada.

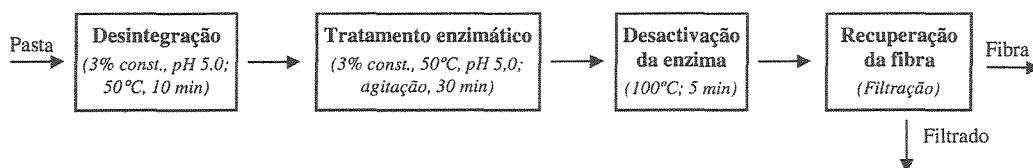


Figura IV: Esquema sequencial do tratamento

Tratamento da pasta com CBD's

O tratamento da pasta com CBD's seguiu o protocolo descrito anteriormente, exceptuando a fase de fervura. Não sendo necessária, esta etapa foi excluída uma vez que poderia provocar alterações nos CBD's adsorvidos.

Avaliação da quantidade de celulose degradada

A extensão da hidrólise da celulose foi avaliada com base na análise dos açúcares redutores presentes no filtrado recolhido no final dos ensaios. A quantificação foi efectuada pelo método de DNS, tendo-se utilizado a glucose como padrão.

Determinação de propriedades físicas e mecânicas

A eficiência dos tratamentos aplicados foi avaliada através da medição dos seguintes parâmetros: drenabilidade, permeabilidade à passagem do ar, densidade aparente, rebentamento, tracção e rasgamento. Os procedimentos utilizados foram os estabelecidos nas Normas Europeias para a indústria do papel. Estes ensaios foram efectuados no laboratório físico da empresa Portucel Viana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito dos tratamentos aplicados sobre as propriedades físicas da pasta e do papel foi analisado através da determinação de parâmetros, tais como, a drenabilidade da pasta, e os Índices de rebentamento, tracção e rasgamento do papel. As Figuras V a VIII apresentam os resultados obtidos. No eixo das ordenadas são identificados os ensaios efectuados, tendo em conta a dosagem de enzima ou CBD's aplicada (mg proteína/ g pasta seca); no eixo das abcissas é apresentado o valor obtido para o parâmetro quantificado. A variação da propriedade quantificada relativamente ao respectivo ensaio de controlo foi avaliada em termos percentuais, para cada caso.

Como se pode verificar, a aplicação de Celluclast 1.5L à pasta de papel permitiu o aumento da drenabilidade. Infelizmente, esta melhoria foi acompanhada pelo decréscimo da resistência do papel, o que torna a utilização desta enzima bastante menos interessante.

No caso do tratamento com Celluclast 1.5L, a medição da percentagem de celulose degradada após o tratamento enzimático (Tabela III), revela que os resultados obtidos deverão ser interpretados tendo em conta a elevada eficiência da enzima em questão para hidrolisar celulose (Figura III) e a quantidade de enzima presente em cada situação de reacção. Como se pode verificar, o aumento da dosagem de enzima está associado ao aumento da quantidade de celulose hidrolisada e à diminuição das propriedades de resistência.

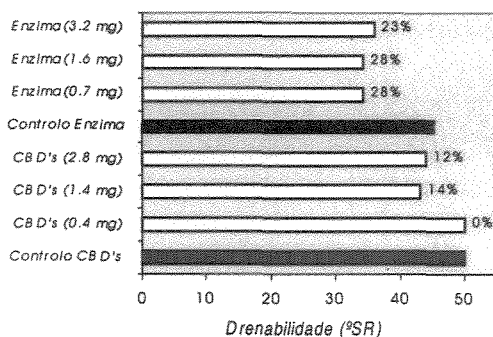


Figura V: Efeito do tratamento da pasta na drenabilidade

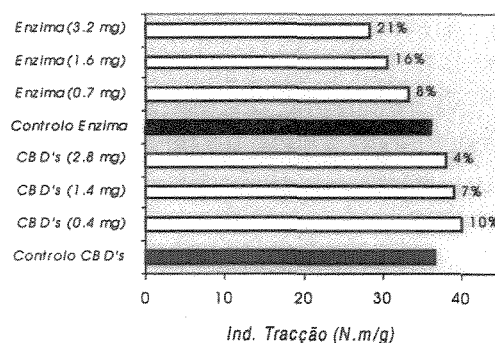


Figura VI: Efeito do tratamento da pasta no índice de Tracção

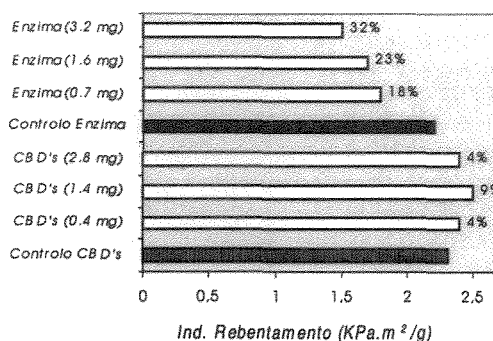


Figura VII: Efeito do tratamento da pasta no índice de Rebentamento

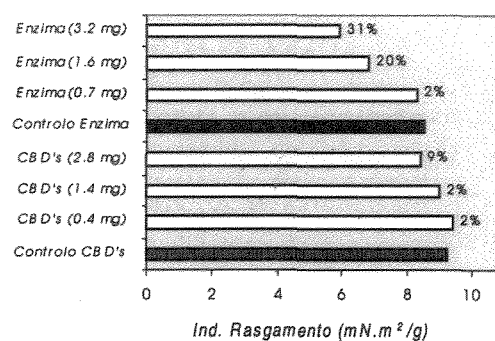


Figura VIII: Efeito do tratamento da pasta no índice de Rasgamento

Tabela III: Degradação da celulose durante o tratamento enzimático		
TRATAMENTO	Dosagem (mg proteína/ g pasta a.s.)	% Celulose degradada
Celluclast 1.5L	0.7	1.0
	1.6	1.9
	3.2	4.0

De um modo geral, considera-se que os tratamentos com celulases prejudicam a resistências das fibras e do papel, enquanto que os tratamentos com hemicelulases não afectam a resistência das fibras. [5, 12, 14]

O interesse existente na utilização da actividade celulase no tratamento das pastas está associado às possíveis alterações causadas nas características morfológicas das fibras, nomeadamente, na sua flexibilidade e colapsibilidade. Estas alterações resultariam na melhoria da estrutura da fibra para formar ligações e no consequente aumento do número de ligações efectuadas, o que permitiria uma melhor consolidação e empacotamento das fibras na folha. [16]

Os tratamentos com hemicelulases tendem a ser associados com a redução da carga total da fibra, tornando-a menos iónica, mediante a remoção do xilano presente na sua superfície.

O efeito combinado das duas actividades depende da dosagem e do período de reacção.

No estudo efectuado verificou-se que o tratamento enzimático aplicado foi responsável pelo aumento da densidade das folhas (resultados não apresentados). Este facto pode ser interpretado como resultado do colapso da fibra, face às modificações causadas pelas enzimas. O achatamento das fibras está correntemente associado ao aumento da área ligada entre elas, e consequentemente, ao aumento das propriedades de resistência nas folhas formadas. No entanto, este facto não é visível nestes resultados.

A permeabilidade das folhas à passagem do ar também foi determinada, tendo-se verificado um aumento superior a 100%, nas folhas resultantes de pastas tratadas enzimaticamente (relativamente ao ensaio de controlo). Este parâmetro pode ser relacionado com a quantidade de material de enchimento presente nas pastas e o seu aumento permite constatar que a porosidade das folhas aumentou depois do tratamento enzimático ter sido efectuado. Este facto, resultante da degradação de finos, poderá justificar o decréscimo das propriedades de resistência. Neste caso, o aumento do número de ligações não terá sido suficiente para compensar os efeitos da hidrólise do material de enchimento. [15]

A perda global de resistência pode ainda estar relacionada com a redução da resistência intrínseca das fibras, não sendo dependente do número de ligações estabelecido ou a força dessas ligações.

A avaliação das propriedades características em função da quantidade de enzima utilizada permite verificar que, independentemente das alterações observadas na resistência do papel, a drenabilidade da pasta não aumenta indefinidamente com o aumento da dosagem de enzima. De facto, foi com a máxima dosagem que se obteve o pior resultado para a melhoria da drenabilidade. Este facto poderá ser explicado pela remoção acentuada das fibrilas existentes na superfície das fibras, que ao serem libertadas, dão origem a finos. Quando a delapidação das camadas exteriores das fibras é realizada de modo tão exaustivo, os finos são produzidos a uma velocidade superior à sua própria degradação, e a drenabilidade decresce.

O tratamento da pasta com CBD's revelou-se bastante interessante. Como se pode verificar a partir das Figuras V - VIII, os índices de resistência do papel aumentaram relativamente ao controlo, ainda que tenham tendência em decrescer mediante o aumento da quantidade de domínios de ligação utilizados. Paralelamente, a drenabilidade das pastas aumenta quando se utilizam as dosagens mais baixas de CBD's. Este facto parece estar intimamente relacionado com a adesão dos CBD's à superfície das fibras, provavelmente por alterar as suas propriedades superficiais. Actualmente, ainda não é possível justificar o teor e importância destas alterações na modificação das propriedades da pasta e do papel. No entanto, o seu resultado parece ser bastante positivo, estando previstos já alguns trabalhos de investigação que permitirão o melhor entendimento deste processo.

De acordo com os resultados obtidos, a concentração de CBD's utilizada parece ser bastante crítica já que uma pequena dosagem parece ser favorável, e as dosagens superiores já são responsáveis por alterações menos positivas e variáveis consoante

as propriedades. Será de admitir que um excesso na dosagem de CBD's bloqueia um certo depilamento de finos por efeito mecânico, piorando as características da pasta.

A quantificação da percentagem de celulose hidrolisada revelou que associado a este tratamento não são libertados açúcares, pelo que se pode confirmar que qualquer alteração verificada não resulta da hidrólise da fibra. Mais ainda, e tal como seria de esperar, o trabalho desenvolvido permitiu verificar que, contrariamente ao observado nas folhas formadas a partir de pastas tratadas com enzima, as tratadas com CBD's não sofrem qualquer alteração nos parâmetros de permeabilidade e densidade. Tendo em conta esta observação parece ser evidente que a estrutura da fibra e a composição da pasta não são alteradas durante o processo e por isso não são as responsáveis pelos resultados obtidos.

CONCLUSÕES

O tratamento enzimático, nas condições em que foi processado, permitiu o aumento da capacidade de desidratação das pastas, com detrimento das propriedades de resistência do papel. No entanto, o estudo efectuado permite verificar que estes resultados são dependentes da quantidade de enzima utilizada, tendo-se observado que quando a dosagem aplicada é reduzida, a perda da resistência é menor, sem que a drenabilidade seja prejudicada. Alguns trabalhos efectuados anteriormente, nos quais se pretendeu estudar a influência das condições operatórias nas características do produto final, comprovam adequadamente esta situação.

Neste caso, em que a degradação de celulose é evidente, as alterações observadas poderão ser justificadas pela acção hidrolítica das enzimas que, segundo vários autores conduz à "depilação" das camadas externas das fibras. Os resultados traduzem várias situações enzima/substrato, evidenciando para a maior dosagem, uma situação de hidrólise demasiado acentuada, que conduz tanto à perda de drenabilidade como à perda de resistências.

O tratamento com CBD's parece ser uma via bastante favorável ao tratamento das pastas. Ainda pouco explorada, esta alternativa revelou ser capaz de promover simultaneamente o aumento dos índices de resistência do papel e a drenabilidade das pastas. A forma pela qual surgem estas alterações ainda não foi estudada, ainda que pareça ser devida à adsorção dos domínios de ligação à superfície das fibras, e à consequente modificação das suas propriedades superficiais.

AGRADECIMENTOS

Os mais sinceros agradecimentos à Portucel Viana por facultar a utilização do Laboratório Físico existente na empresa, sem o que este trabalho não poderia ter sido realizado. Agradece-se em particular à Sr.^a Eng.^a Teresa Ferrete e ao Sr. Eng.^o Delfim Trancoso, pela permanente disponibilidade e interesse neste trabalho de investigação; e à Equipa Técnica do Laboratório Físico, pela ajuda e apoio demonstrados. Agradece-se à Doutora Adília Lemos a cedência dos CBD's necessários ao estudo efectuado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Bernard Henrissat (1994), "Cellulases and their interaction with cellulose", Cellulose, Blackie Academic & Professional, 169 – 196.
- [2] Fikret Kaya, John A. Heitmann Jr., Thomas W. Joyce (1994), "Cellulase binding to cellulose fibers in high shear fields", Journal of Biotechnology 36, 1 – 10.
- [3] Ganapati R. Bhat, John A. Heitmann, and Thomas W. Joyce (1991), "Novel techniques for enhancing the strength of secondary fibre", Tappi Journal, 151-157
- [4] G. Stork, and J. Puls (1994), "Change in properties of different recycled pulps by endoglucanase treatment", Biotechnology in the pulp and paper Industry, 145-150
- [5] Gerhard Stork, Helena Pereira, Thomas M. Wood, Eva Düsterhöft, Annette Toft e Juergen Puls (1995), "Upgrading recycled pulps using enzymatic treatment", Tappi Journal vol. 78 n.º 2, 79 – 88.
- [6] Jaakko Pere, Matti Siika-aho, Johanna Buchert e Liisa Viikari (1995), "Effects of purified Trichoderma reesei cellulases on the fiber properties of kraft pulp", Tappi Journal vol.78 n.º 6, 71 – 78.
- [7] Jean-Claude Pommier, Jean-Luc Fuentes e Gerard Goma (1989), "Using enzymes to improve the process and the product quality in the recycled paper industry – Part 1: the basic laboratory work", Tappi Journal vol.72 n.º 6, 187 – 191.
- [8] Jeffries, T. (1992), "Enzymatic Treatments of Pulps", ACS Symposium Series (476), American Chemical Society, 313-329.
- [9] L. Scott Jackson, John A. Heitmann, and Thomas W. Joyce (1993), "Enzymatic modifications of secondary fibre", Tappi Journal vol. 76 n.º 3, 147-154
- [10] Lawrence H. Allen e Irene M. Yaraskavitch (1991), "Effects of retention and drainage aids on paper machine drainage: a review", Tappi Journal, 79 – 84.
- [11] M.A. Lemos, J.A. Teixeira, M. Mota & F. M. Gama (2000) "A simple method to separate cellulose-binding domains of fungal cellulases after digestion by a protease", Biotechnology Letters 22, 703 – 707
- [12] Minna S. Lumme, Shawn D. Mansfield, John Saddler (1998), "Effect of enzyme treatment on two British Columbian interior fir kraft pulps", Biotechnology in the Pulp and Paper Industry , C163 – C166.
- [13] Mousa M. Nazhad e Laszlo Paszner (1994), "Fundamentals of strength loss in recycled paper" Tappi Journal, 171 – 179.
- [14] S. E. Ryon, E. de Jong, G. M. Gübitz, M. Tuohy e J. N. Saddler (??), "The potential of hydrolytic enzymes to modify Douglas-fir derived bleached mechanical pulps", Carbohydrases from Trichoderma reesei and other Microorganisms, 214 – 226.
- [15] Shawn D. Mansfield, Ken K. Y. Wong, Ed De Jong e John N. Saddler (1996), "Modification of Douglas-fir mechanical and kraft pulps by enzyme treatment", Tappi Journal vol. 79 n.º 8, 125 – 131
- [16] Shawn D. Mansfield, Alan R. Dickson e John N. Saddler (1998), "Improving paper properties by selective enzymatic treatment of coarse pulp fibres", Biotechnology in the Pulp and Paper Industry, A189 – A192.